

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2004-271522  
 (43)Date of publication of application : 30.09.2004

(51)Int.Cl. G01N 30/48  
 B01J 20/22

(21)Application number : 2004-037603 (71)Applicant : DAISO CO LTD  
 (22)Date of filing : 16.02.2004 (72)Inventor : URANO TAKESHI

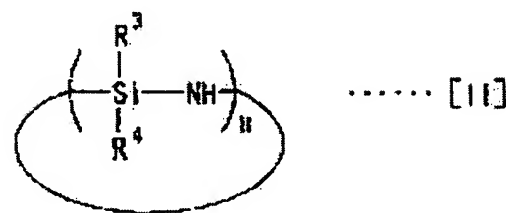
(30)Priority  
 Priority number : 2003039244 Priority date : 18.02.2003 Priority country : JP

(54) FILLER FOR LIQUID CHROMATOGRAPHY, MANUFACTURING METHOD THEREFOR, AND APPLICATION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a high-performance filler for liquid chromatography that significantly reduces a residual silanol group and remarkably suppress the tailing of a basic compound.

SOLUTION: An end capping agent is chemically combined with the residual silanol group on the surface of silica gel, by allowing the end cap agent expressed by general formula [II] to react with the silica gel surface-modified by a chemical modification agent, in terms of a liquid phase or a gaseous phase, where R<sup>3</sup> and R<sup>4</sup> are the same or are different, and are alkyl groups having 1-4 carbons, and n is a coefficient for a unit forming a ring and indicates 2-10 integers.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 22.09.2005  
 [Date of sending the examiner's decision of rejection]  
 [Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]  
 [Date of final disposal for application]  
 [Patent number]  
 [Date of registration]  
 [Number of appeal against examiner's decision of rejection]  
 [Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]  
 [Date of extinction of right]

BEST AVAILABLE COPY

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-271522

(P2004-271522A)

(43) 公開日 平成16年9月30日(2004.9.30)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

G01N 30/48

B01J 20/22

F I

G01N 30/48

B01J 20/22

L

D

テーマコード (参考)

4 G 0 6 6

審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 15 頁)

(21) 出願番号 特願2004-37603 (P2004-37603)  
 (22) 出願日 平成16年2月16日 (2004.2.16)  
 (31) 優先権主張番号 特願2003-39244 (P2003-39244)  
 (32) 優先日 平成15年2月18日 (2003.2.18)  
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(71) 出願人 000108993  
 ダイソー株式会社  
 大阪府大阪市西区江戸堀1丁目10番8号  
 (74) 代理人 100083149  
 弁理士 日比 紀彦  
 (74) 代理人 100060874  
 弁理士 岸本 瑛之助  
 (74) 代理人 100079038  
 弁理士 渡邊 彰  
 (74) 代理人 100069338  
 弁理士 清末 康子  
 (72) 発明者 浦野 武  
 大阪府大阪市西区江戸堀1丁目10番8号  
 ダイソー株式会社内

最終頁に続く

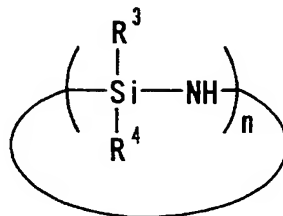
(54) 【発明の名称】 液体クロマトグラフィー用充填剤、その製造方法および用途

## (57) 【要約】

【課題】 残存シラノール基を極めて少なくし、塩基性化合物のテーリングを著しく抑制した高性能液体クロマトグラフィー用充填剤を提供する。

【解決手段】 化学修飾剤で表面修飾されたシリカゲルに下記一般式 [II] で表されるエンドキャッピング剤を液相または気相で反応させてシリカゲル表面の残存シラノール基にエンドキャッピング剤を化学結合させる。式中、 $R^3$  および  $R^4$  は、同一または異なり、炭素数1～4のアルキル基、 $n$  は環を形成するユニットの係数で2～10の整数をそれぞれ意味する。

【化1】



..... [II]

10

【選択図】 なし

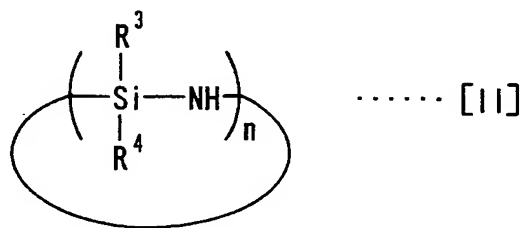
20

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

化学修飾剤で表面修飾されたシリカゲルに下記一般式 [II] で表されるエンドキャッピング剤を液相または気相で反応させてシリカゲル表面の残存シラノール基にエンドキャッピング剤を化学結合させることを特徴とする液体クロマトグラフィー用充填剤の製造法。

## 【化 1】



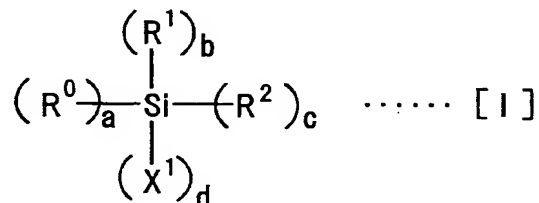
10

式中、 $\text{R}^3$  および  $\text{R}^4$  は、同一または異なり、炭素数 1～4 のアルキル基、 $n$  は環を形成するユニットの係数で 2～10 の整数をそれぞれ意味する。

## 【請求項 2】

化学修飾剤が下記一般式 [I] で表されるアルキルシランである請求項 1 に記載の液体クロマトグラフィー用充填剤の製造法。

## 【化 2】



20

式中、 $\text{X}^1$  は水素原子、ハロゲン原子もしくは炭素数 1～4 のアルコキシ基、 $\text{R}^0$ 、 $\text{R}^1$  および  $\text{R}^2$  は、同一または異なり、アルキル基またはアリール基をそれぞれ意味する。  $a$  は  $\text{R}^0$  の係数で 0～3 の整数、 $b$  は  $\text{R}^1$  の係数で 0～3 の整数、 $c$  は  $\text{R}^2$  の係数で 0～3 の整数、 $d$  は  $\text{X}^1$  の係数で 1～3 の整数をそれぞれ意味し、 $a + b + c + d = 4$  である。

30

## 【請求項 3】

一般式 [I] の  $\text{R}^0$ 、 $\text{R}^1$  および  $\text{R}^2$  としてのアルキル基が末端にアリール基、アミノ基もしくはシアノ基を有するか、または、非末端にアミド基、カーバメート基またはカーバマイド基、エステル基またはカーボネート基を有する請求項 2 に記載の液体クロマトグラフィー用充填剤の製造法。

## 【請求項 4】

請求項 1～3 のいずれかに記載の方法により製造された液体クロマトグラフィー用充填剤。

40

## 【請求項 5】

$^{29}\text{Si}$  固体 NMR により求められるシラノール残量が 5% 以下である請求項 4 に記載の液体クロマトグラフィー用充填剤。

## 【請求項 6】

請求項 4 または 5 に記載される液体クロマトグラフィー用充填剤が充填された液体クロマトグラフィー用カラム。

## 【請求項 7】

請求項 6 に記載される液体クロマトグラフィー用カラムを用いた化合物の分析方法または分取方法。

50

## 【請求項 8】

液体クロマトグラフィーが逆相液体クロマトグラフィーである請求項 7 記載の化合物の分析方法または分取方法。

## 【請求項 9】

化合物が塩基性化合物である請求項 7 または 8 記載の化合物の分析方法または分取方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、液体クロマトグラフィー用充填剤の新規製造法に関するものである。

## 【0002】

液体クロマトグラフィーは医薬品や食品、天然化合物などの分野で重要な分析分離手段として幅広く使用されている。汎用の液体クロマトグラフィー用充填剤は表面をアルキル基などで修飾した多孔性シリカゲルである。表面修飾シリカゲルとしては、表面の OH 基にケイ素原子を介してオクタデシル基を導入したもの（ODS）が最も一般的であるが、導入基がオクチル基、ブチル基、メチル基などであるものも知られている。また、アルキル基は末端にフェニル基やアミノ基、シアノ基などの官能基を有する場合もある。

## 【0003】

しかし、シリカゲルをアルキル化で表面修飾してもシリカ表面にシラノール基（Si-OH）が残存する。残存シラノール基は、塩基性化合物を分析あるいは分取の対象とした場合、同化合物との強い相互作用によりこれを溶出しなかったり、ピークがテーリングするなどの問題がある。それを防ぐため、表面修飾の後、残存シラノール基を二次シリル化によりエンドキャップし、シリカ表面をより不活性にする必要がある。

## 【背景技術】

## 【0004】

従来のエンドキャップ法として、特許文献 1 には、化学修飾剤で表面修飾されたシリカゲルまたは多孔質ガラスに、エンドキャッピング剤として特定のシクロシロキサン、ハイドロジェンシロキサン、アルコキシシランまたはシロキサンを気相反応させてシリカゲル表面の残存シラノール基にエンドキャッピング剤を化学結合させる方法が記載され、特許文献 2 には、シリカゲルに特定のポリジメチルシロキサン、ポリフェニルメチルシロキサン、ポリジフェニルジメチルシロキサン、ポリシアノプロピルメチルジメチルシロキサン、ポリシアノプロピルメチルフェニルメチルシロキサンなどを反応させる方法が記載され、特許文献 3 には、化学修飾剤で表面修飾されたシリカゲルに特定のシラザン、ジシラザン、シロキサン、ポリシロキサンなどの末端付加剤の少なくとも 2 種を 180～240℃で気相反応させる方法が記載されている。

## 【0005】

しかし、これらの方法では、反応に高温が必要である上、シリカ表面の残存シラノール基を十分に少なくすることができない。そのためこれらの方法で得られた充填剤では塩基性化合物のテーリングが防ぎきれない。

【特許文献 1】特開平 4-212058 号公報。

【特許文献 2】特開平 8-304371 号公報。

【特許文献 3】特開平 10-73579 号公報。

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0006】

本発明は、上記のような実状から、残存シラノール基を極めて少なくし、塩基性化合物のテーリングを著しく抑制した高性能液体クロマトグラフィー用充填剤を提供することを課題とするものである。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0007】

本発明者は、上記課題を解決すべく種々の検討を行った結果、特定化合物を用い特定条

10

20

30

40

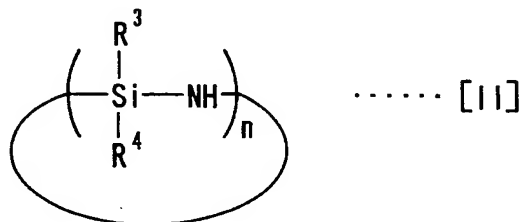
50

件下でエンドキャッピング反応を行う液体クロマトグラフィー用充填剤の製造方法を見出した。

【0008】

すなわち、本発明による液体クロマトグラフィー用充填剤の製造方法は、化学修飾剤で表面修飾されたシリカゲルに下記一般式〔II〕で表されるエンドキャッピング剤を液相または気相で反応させてシリカゲル表面の残存シラノール基にエンドキャッピング剤を化学結合させることを特徴とする方法である。

【化1】



10

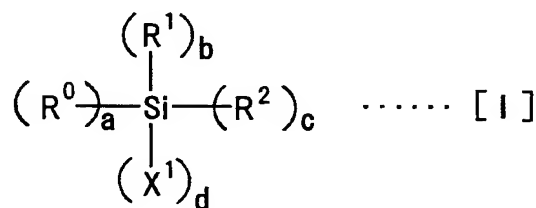
【0009】

式中、 $R^3$  および  $R^4$  は、同一または異なり、炭素数1～4のアルキル基、 $n$ は環を形成するユニットの係数で2～10の整数をそれぞれ意味する。

【0010】

上記化学修飾剤は下記一般式〔I〕で表されるアルキルシランであることが好ましい。ただし化学修飾剤はこれに限定されない。

【化2】



20

30

【0011】

式中、 $X^1$  は水素原子、ハロゲン原子もしくは炭素数1～4のアルコキシル基、 $R^0$ 、 $R^1$  および  $R^2$  は、同一または異なり、アルキル基またはアリール基をそれぞれ意味する。 $a$ は $R^0$ の係数で0～3の整数、 $b$ は $R^1$ の係数で0～3の整数、 $c$ は $R^2$ の係数で0～3の整数、 $d$ は $X^1$ の係数で1～3の整数をそれぞれ意味し、 $a + b + c + d = 4$ である。

【0012】

本明細書および特許請求の範囲において、アルキル基は、直鎖状、分枝状または脂環式のものであってよい。

40

【0013】

一般式〔I〕中の $R^0$ 、 $R^1$  および  $R^2$  としてのアルキル基は、好ましくは1～50、より好ましくは1～30の炭素原子を有する。このアルキル基は、末端にアリール基、アミノ基もしくはシアノ基を有するか、または、非末端にアミド基（ $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-$ ）、カーバメート基（ $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ ）またはカーバマイド基（ $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ ）、エステル基（ $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-$ ）またはカーボネート基（ $-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$ ）を有していてもよい。

【0014】

一般式〔I〕中の $R^0$ 、 $R^1$  および  $R^2$  としてのアリール基は、フェニル基、トリル基、ナフチル基などであってよい。

50

## 【0015】

上記方法により製造された液体クロマトグラフィー用充填剤は、 $^{29}\text{Si}$  固体NMRにより求められるシラノール基残量が極めて少ない（好ましくは5%以下）ものである。該液体クロマトグラフィー用充填剤が充填された液体クロマトグラフィー用カラムは、特に逆相液体クロマトグラフィーに適しており、化合物、とりわけ塩基性化合物の分析および分取において有用である。

## 【0016】

原料シリカゲルは、粒子径が通常 $1\sim 1000\mu\text{m}$ 、好ましくは $2\sim 200\mu\text{m}$ であり、細孔径が通常 $10\sim 10000$ オングストローム、好ましくは $50\sim 3000$ オングストロームであり、表面積が通常 $1\sim 1000\text{m}^2/\text{g}$ 、好ましくは $5\sim 600\text{m}^2/\text{g}$ である多孔性シリカゲルである。分析カラム用の充填剤の原料シリカゲルとしては高純度の球形物が好ましい。

10

## 【0017】

一般式〔I〕で表される化学修飾剤は、一官能性、二官能性もしくは三官能性の、水素原子、ハロゲン原子またはアルコキシル基を有するアルキルシランまたはアリールシランである。化学修飾剤の具体的な例を表1に例示する。

【表 1】

R <sup>0</sup> , R <sup>1</sup> 又はR <sup>2</sup> 略号	一官能性アルキル化剤	二官能性アルキル化剤	三官能性アルキル化剤
C30	トリアコンチルジメチルクロロシラン トリアコンチルジメチルメトキシシラン	トリアコンチルメチルジクロロシラン トリアコンチルメチルジメトキシシラン	トリアコンチルトリクロロシラン トリアコンチルトリメトキシシラン
C22	ドコシルジメチルクロロシラン ドコシルジメチルメトキシシラン	ドコシルメチルジクロロシラン ドコシルメチルジメトキシシラン	ドコシルトリクロロシラン ドコシルトリメトキシシラン
C18	オクタデシルジメチルクロロシラン オクタデシルジメチルメトキシシラン	オクタデシルメチルジクロロシラン オクタデシルメチルジメトキシシラン	オクタデシルトリクロロシラン オクタデシルトリメトキシシラン
C8	オクチルジメチルクロロシラン オクチルジメチルメトキシシラン	オクチルメチルジクロロシラン オクチルメチルジメトキシシラン	オクチルトリクロロシラン オクチルトリメトキシシラン
C4	ブチルジメチルクロロシラン ブチルジメチルメトキシシラン	ブチルメチルジクロロシラン ブチルメチルジメトキシシラン	ブチルトリクロロシラン ブチルトリメトキシシラン
C1	トリメチルクロロシラン トリメチルメトキシシラン	ジメチルジクロロシラン ジメチルジメトキシシラン	メチルトリクロロシラン メチルトリメトキシシラン
Ph	フェニルジメチルクロロシラン フェニルジメチルメトキシシラン	フェニルメチルジクロロシラン フェニルメチルジメトキシシラン	フェニルトリクロロシラン フェニルトリメトキシシラン
NH <sub>2</sub>	3-アミノプロピルジメチルメトキシシラン 3-アミノプロピルジメチルエトキシシラン	3-アミノプロピルメチルジメトキシシラン 3-アミノプロピルメチルジエトキシシラン	3-アミノプロピルトリメトキシシラン 3-アミノプロピルトリエトキシシラン
CN	3-シアノプロピルジメチルクロロシラン 3-シアノプロピルジメチルメトキシシラン	3-シアノプロピルメチルジクロロシラン 3-シアノプロピルメチルジメトキシシラン	3-シアノプロピルトリクロロシラン 3-シアノプロピルトリメトキシシラン

10

20

30

40

50

## 【0018】

化学修飾剤として一般式 [I] で表されるものを用いる場合、シリカゲルの表面修飾反応は、通常 60～200℃、好ましくは 100～160℃で、好ましくは液相中で行う。溶媒としては、シリカゲルおよび化学修飾剤とは反応せずかつ上記反応温度下で安定であるものであればよく、ベンゼン、トルエン、キシレン、メシチレンなどの芳香族炭化水素、ジクロロベンゼンなどの置換芳香族化合物が好ましい。反応圧は通常常圧であるが、反応を 1.5～5.0 kg/cm<sup>2</sup> の加圧条件下で行ってもよい。反応時間は通常 0.5～20 時間、好ましくは 3～10 時間である。ピリジン、イミダゾールのような塩基性化合物を添加することが好ましい。

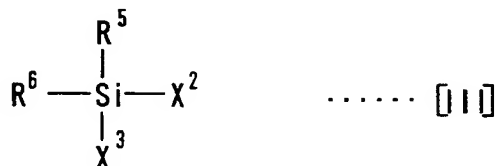
## 【0019】

表面修飾反応後の反応液をそのままつぎのエンドキャッピング反応に用いてもよいが、表面修飾反応液から固形分を取り出してこれを洗浄乾燥してからエンドキャッピング反応に用いてもよい。

## 【0020】

一般式 [II] で表されるエンドキャッピング剤は二官能性環状シラザンであり、好ましくは 1, 1, 3, 3, 5, 5-ヘキサメチルシクロトリシラザン、1, 1, 3, 3, 5, 5, 7, 7-オクタメチルシクロテトラシラザン、1, 1, 3, 3, 5, 5, 7, 7, 9, 9-デカメチルシクロペンタシラザン、1, 1, 3, 3, 5, 5, 7, 7, 9, 9, 11, 11-ドデカメチルシクロヘキサシラザン、1, 1, 3, 3, 5, 5-ヘキサエチルシクロトリシラザン、1, 1, 3, 3, 5, 5, 7, 7-オクタエチルシクロテトラシラザン、1, 1, 3, 3, 5, 5, 7, 7, 9, 9-デカエチルシクロペンタシラザン、1, 1, 3, 3, 5, 5, 7, 7, 9, 9, 11, 11-ドデカエチルシクロヘキサシラザンなどが例示される。これらは単独で用いても 2 種以上の混合物で用いてもよい。エンドキャッピング剤 [II] を一般式 [III] で表される二官能性シラン（例えば、ジメチルジクロロシラン、ジメチルジメトキシシランなど）と混合して用いてもよい。

## 【化 3】



## 【0021】

式中、X<sup>2</sup> および X<sup>3</sup> は、同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1～4 のアルコキシル基、R<sup>5</sup> および R<sup>6</sup> は、同一または異なり、炭素数 1～4 のアルキル基またはアリール基をそれぞれ意味する。

## 【0022】

エンドキャッピング剤としての二官能性環状シラザンは、トリメチルクロロシランやヘキサメチルジシラザンなどの一官能性のものに比べると、反応できるサイトが多く、より活性であり、またメチルトリクロロシランなどの三官能性のものに比べると、副反応が少ないといった利点がある。二官能性環状シラザンは、類似構造の環状シロキサンに比べると約 50℃ほど高い沸点を有し、液相反応に適している。また、シロキサンの反応では水が副生するのに対し、シラザンを用いた液相反応では、アンモニアが気相に脱して反応の進行に有利である上、未反応シラザンの回収再利用が可能である。

## 【0023】

エンドキャッピング剤の使用量は、エンドキャッピング剤／表面修飾シリカゲルの重量比で通常 0.1～20 で、好ましくは 0.2～2 である。

## 【0024】

エンドキャッピング剤はそれ自体をそのまま反応に使用してもよいが、有機溶媒で希釈

10

20

30

40

50



して使用することもでき、この場合コストが削減できる。希釈に用いる有機溶媒は、エンドキャッピング剤と反応せずかつ反応温度下で安定であるものであればよく、ベンゼン、トルエン、キシレン、メシチレンなどの芳香族炭化水素、ジクロロベンゼンなどの置換芳香族化合物が好適である。希釈倍率は、溶媒／エンドキャッピング剤の重量比で通常0.1～200で、好ましくは1～20である。

#### 【0025】

エンドキャッピング反応は気相で行ってもよいが、液相で行うと反応設備が簡易なものでよい上にバッチ当たりの処理量を増やすことができる。

#### 【0026】

エンドキャッピング反応の反応温度は好ましくは100～200℃、より好ましくは140～180℃である。反応温度が高いほどエンドキャッピング反応を促進する効果があるが、設備にかかる負担が大きい。

#### 【0027】

エンドキャッピング反応は常圧でも行えるが、1.5～5.0 kg/cm<sup>2</sup>の加圧条件下で行うことが好ましい。また、反応温度に近い沸点を有する有機溶媒を選択することで、反応時の圧力を低く抑えることができ、反応設備の耐圧性に対する要求が緩和される。

#### 【0028】

エンドキャッピング反応の反応時間は通常0.5～20時間、好ましくは3～10時間である。

#### 【0029】

エンドキャッピング反応後、固液分離により未反応のエンドキャッピング剤を回収し、再利用することができる。分離した固形分をメタノールで洗浄し、乾燥して液体クロマトグラフィー用充填剤を得る。

#### 【発明の効果】

#### 【0030】

本発明によれば、200℃以下という比較的温和な温度で、したがって比較的簡易な反応設備でかつ低コストで、高性能液体クロマトグラフィー用充填剤を製造することができる。

#### 【0031】

本発明による液体クロマトグラフィー用充填剤は、シラノール基残量が極めて少なく(<sup>29</sup>Si 固体NMRにより求められるシラノール基残量が好ましくは5%以下)、塩基性化合物のテーリングを著しく抑制し、ピークの対称性を大幅に改善した高性能なものであり、特に逆相液体クロマトグラフィーに適し、かつ塩基性化合物の分析および分取に有用である。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

#### 【0032】

以下、本発明の実施例を幾つか挙げ、本発明を具体的に説明する。ただし、これら実施例は本発明を限定するものではない。比較として従来のエンドキャッピング剤を用いた例を挙げる。また、市販の代表的なODSカラムについても比較試験を行った。

#### 【0033】

##### 実施例1

シリカゲルとしてダイソーゲルSP-100-5P（球形高純度シリカゲル、平均粒子径5μm、細孔径100オングストローム、表面積450m<sup>2</sup>/g）15gを200mlトルエン中で共沸脱水したのち、化学修飾剤としてオクタデシルジメチルクロロシラン4.7gとピリジン1.3gを加え、この混合物を加熱して5時間還流させ、反応混合物の冷却およびろ過の後、得られた固形分をメタノールで数回洗浄し、乾燥して、表面修飾シリカゲル19gを得た。

#### 【0034】

得られた表面修飾シリカゲル19gとエンドキャッピング剤として1, 1, 3, 3, 5, 5-ヘキサメチルシクロトリシラザン20gとキシレン200gをオートクレーブに仕

10

20

30

40

50

込み、液相中で温度 160℃、圧力 1.5～3.0 kg/cm<sup>2</sup> で 5 時間エンドキャップ反応を行い、反応混合物の冷却およびろ過の後、得られた固形分をメタノールで数回洗浄し、乾燥して、液体クロマトグラフィー用充填剤 20 g を得た。

#### 【0035】

##### 実施例 2

化学修飾剤としてオクタデシルメチルジクロロシラン 5.0 g を用いピリジンの添加量を 2.6 g に変えた以外、実施例 1 と同じ操作を行い、液体クロマトグラフィー用充填剤 20 g を得た。

#### 【0036】

##### 実施例 3

化学修飾剤としてオクタデシルトリクロロシラン 5.3 g を用いピリジンの添加量を 3.9 g に変えた以外、実施例 1 と同じ操作を行い、液体クロマトグラフィー用充填剤 20 g を得た。

#### 【0037】

##### 比較例 1

実施例 1 と同じ化学修飾剤を用いて同じ操作で得られた表面修飾シリカゲル 19 g を、エンドキャッピング剤としてトリメチルクロロシラン 20 g とトルエン 200 g 中に仕込み、液相中で温度 110℃、常圧で 5 時間エンドキャップ反応を行い、得られた反応混合物を実施例 1 と同様に処理して液体クロマトグラフィー用充填剤 20 g を得た。

#### 【0038】

##### 比較例 2

実施例 1 と同じ化学修飾剤を用いて同じ操作で得られた表面修飾シリカゲル 19 g とヘキサメチルジシラザン 20 g とトルエン 200 g をオートクレーブに仕込み、液相中で温度 140℃、圧力 1.5～3.0 kg/cm<sup>2</sup> で 5 時間エンドキャップ反応を行い、得られた反応混合物を実施例 1 と同様に処理して液体クロマトグラフィー用充填剤 20 g を得た。

#### 【0039】

##### 比較例 3

G 社製 ODS カラム I (内径 4.6 mm、長さ 150 mm) を用意した。

#### 【0040】

##### 比較例 4

Y 社製 ODS カラム P (内径 4.6 mm、長さ 150 mm) を用意した。

#### 【0041】

##### 比較例 5

N 社製 ODS カラム M (内径 4.6 mm、長さ 150 mm) を用意した。

#### 【0042】

##### 比較例 6

S 社製 ODS カラム C (内径 4.6 mm、長さ 150 mm) を用意した。

#### 【0043】

##### 評価試験

##### 1) シラノール基残量の定量

実施例および比較例で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤すなわちエンドキャップされたシリカゲルについて、高分解能 500 MHz <sup>29</sup>Si 固体 NMR (日本電子社製「Jeol ECP-500」) を用いて、シングルパルスマジックアングルスピンニング法で、下記条件で、Si 種の NMR 測定を行い、得られた NMR スペクトルから下記式によりシラノール基残量を算出した。

#### 【0044】

シラノール基残量 =  $[Q^3 / (Q^3 + Q^4)] \times 100\%$

Q<sup>3</sup> : -100 ppm 付近にシラノール基を持つ Si 種に属するピークの積分値

Q<sup>4</sup> : -110 ppm 付近にシラノール基を持たない Si 種に属するピークの積分値

10

20

30

40

50

シラノール基残量はもちろん低い方がよく、5%以下であることが好ましい。<sup>29</sup>Si-NMR測定条件

回転数：5000Hz

磁場強度：11.7T

共鳴周波数：99.36MHz

パルス長：2.8μs

測定周期：25s

スキャン回数：2500

実施例1～3および比較例1～2で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤の<sup>29</sup>Si-NMRチャートを図1、図3、図5、図7および図9にそれぞれ示す。これらから分かるように、実施例1～3の液体クロマトグラフィー用充填剤では、残存シラノール基（-100ppm付近のピーク（Q<sup>3</sup>））は検出されなかった。

【0045】

実施例1～3および比較例1～2の液体クロマトグラフィー用充填剤について求めたシラノール基残量を表2に示す。表2から分かるように、実施例1～3の液体クロマトグラフィー用充填剤ではシラノール基残量は0%であり、好ましい結果であった。比較例1～2の液体クロマトグラフィー用充填剤ではシラノール基残量が多く、好ましくない結果であった。

【0046】

2) 液体クロマトグラフィー評価

実施例および比較例で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤をステンレススチールカラム（内径4.6mm、長さ150mm）に充填し、アミトリプチリンを標準サンプルに用いて、液体クロマトグラフィー評価試験を行った。アミトリプチリンは抗うつ作用を有する強塩基性の化合物であり（pKa=9.4）、液体クロマトグラフィーにおいてテーリングが激しく分析が難しい代表的な化合物である。液体クロマトグラフィー評価試験は、移動相を構成する緩衝液として残存シラノール基の影響を最も受けやすいもの（pH7.0、温度20℃）を用い、下記操作条件で行った。実施例1～3および比較例1～6の液体クロマトグラフィー用充填剤のアミトリプチリンの液体クロマトグラフィーチャートを図2、図4、図6、図8、図10、図11、図12、図13および図14にそれぞれ示す。

【0047】

実施例1～3および比較例1～6の液体クロマトグラフィー用充填剤について、非対称係数（As）を下記式のように10%ピーク高さ基準で計算した。得られた値を表2および表3に示す。非対称係数は好ましくは3.0以下、理想的には1.0であり、値が低いほどピークの対称性がよく、テーリングが少ないことを意味する。これらの表から分かるように、実施例1～3の液体クロマトグラフィー用充填剤では、非対称係数は3.0以下であり、好ましい結果であった。比較例1～6の液体クロマトグラフィー用充填剤では、非対称係数は3.0を大きく上回り、好ましくない結果であった。

【0048】

$$A_s = b / a$$

a：10%ピーク高さにおけるピーク前半のピーク幅である。

【0049】

b：10%ピーク高さにおけるピーク後半のピーク幅である。

【0050】

液体クロマトグラフィーの操作条件

移動相：20mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 緩衝液（pH=7.0）

／メタノール

=35／65（体積比）

流速：1.4ml／分

カラム温度：20℃

検出器：UV 240 nm

サンプル：アミトリブチリン（0.75 mg/ml、10  $\mu$ l）

【表 2】

	化学修飾剤	エンドキャッピング剤	シラノール 基残量 (%)	非対称係数 (A s)
実施例 1	オクタデシルジメ チルクロロシラン	1, 1, 3, 3, 5, 5 -ヘキサメチルシクロ トリシラザン	0	1. 7
実施例 2	オクタデシルメチ ルジクロロシラン	1, 1, 3, 3, 5, 5 -ヘキサメチルシクロ トリシラザン	0	2. 5
実施例 3	オクタデシルトリ クロロシラン	1, 1, 3, 3, 5, 5 -ヘキサメチルシクロ トリシラザン	0	2. 9
比較例 1	オクタデシルジメ チルクロロシラン	トリメチルクロロシラ ン	13. 1	6. 2
比較例 2	オクタデシルジメ チルクロロシラン	ヘキサメチルジシラザ ン	12. 2	5. 6

【表 3】

	市販カラム	非対称係数 (A s)
比較例 3	G社製ODSカラム I	4. 9
比較例 4	Y社製ODSカラム P	7. 4
比較例 5	N社製ODSカラム M	7. 4
比較例 6	S社製ODSカラム C	4. 2

【図面の簡単な説明】

【0051】

【図 1】実施例 1 で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤の  $^{29}\text{Si}$ -NMR チャートである。

【図 2】実施例 1 で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤を用いたアミトリブチリンの液体クロマトグラフィーチャートである。

【図 3】実施例 2 で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤の  $^{29}\text{Si}$ -NMR チャートである。

【図 4】実施例 2 で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤を用いたアミトリブチリンの液体クロマトグラフィーチャートである。

【図 5】実施例 3 で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤の  $^{29}\text{Si}$ -NMR チャートである。

【図 6】実施例 3 で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤を用いたアミトリブチリンの液体クロマトグラフィーチャートである。

【図 7】比較例 1 で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤の  $^{29}\text{Si}$ -NMR チャートである。

【図 8】比較例 1 で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤を用いたアミトリプチリンの液体クロマトグラフィーチャートである。

【図 9】比較例 2 で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤の  $^{29}\text{Si}$ -NMR チャートである。

【図 10】比較例 2 で得られた液体クロマトグラフィー用充填剤を用いたアミトリプチリンの液体クロマトグラフィーチャートである。

【図 11】比較例 3 の G 社製 ODS カラム I を用いたアミトリプチリンの液体クロマトグラフィーチャートである。

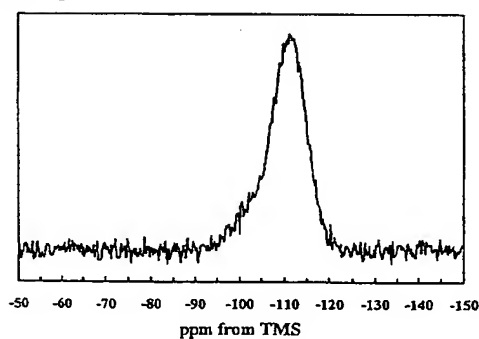
【図 12】比較例 4 の Y 社製 ODS カラム P を用いたアミトリプチリンの液体クロマトグラフィーチャートである。

【図 13】比較例 5 の N 社製 ODS カラム M を用いたアミトリプチリンの液体クロマトグラフィーチャートである。

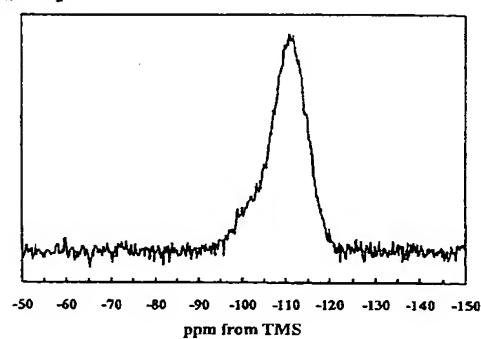
【図 14】比較例 6 の S 社製 ODS カラム C を用いたアミトリプチリンの液体クロマトグラフィーチャートである。

10

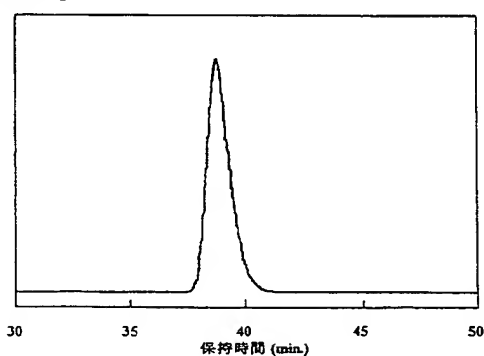
【図 1】



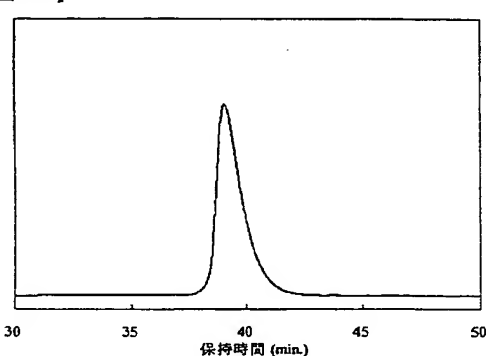
【図 3】



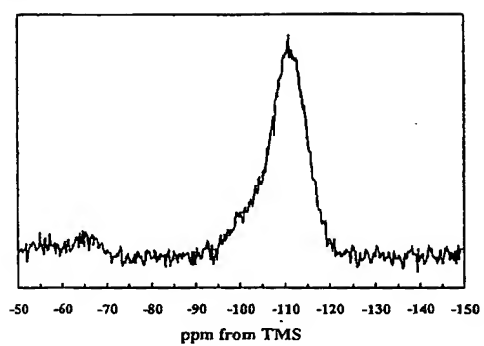
【図 2】



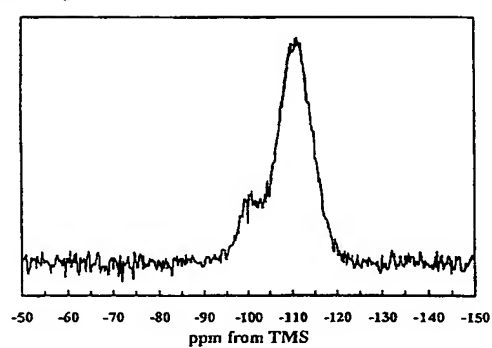
【図 4】



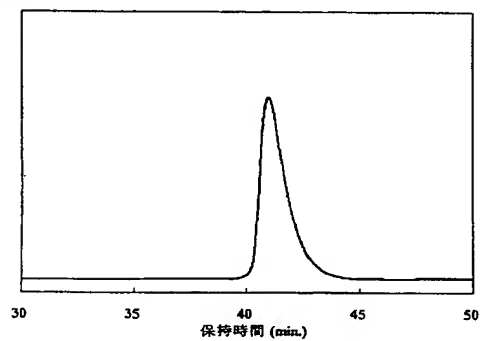
【図 5】



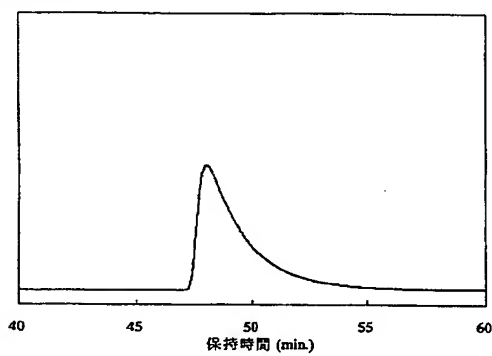
【図 7】



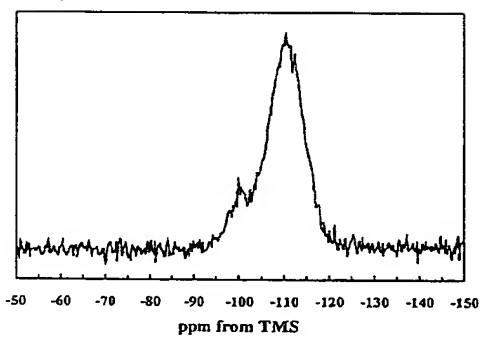
【図 6】



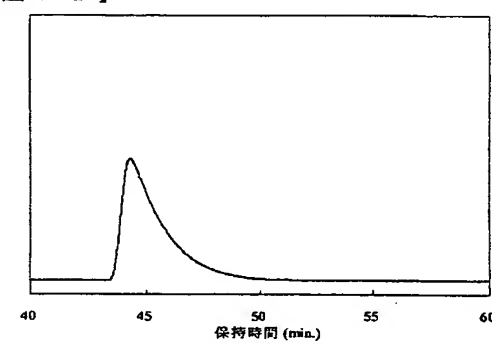
【図 8】



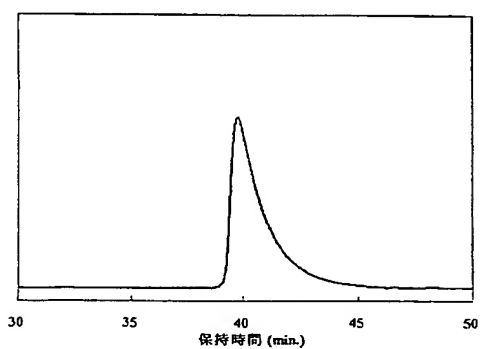
【図 9】



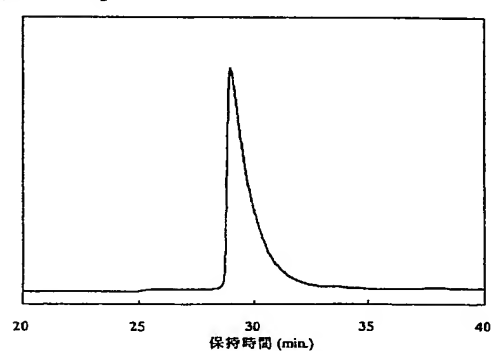
【図 11】



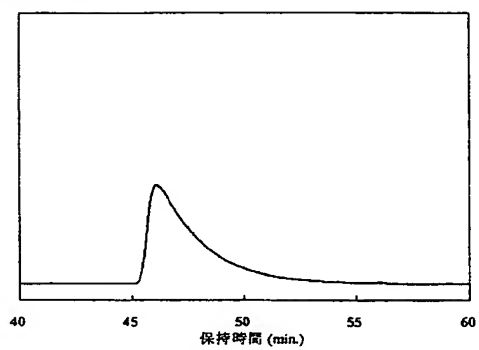
【図 10】



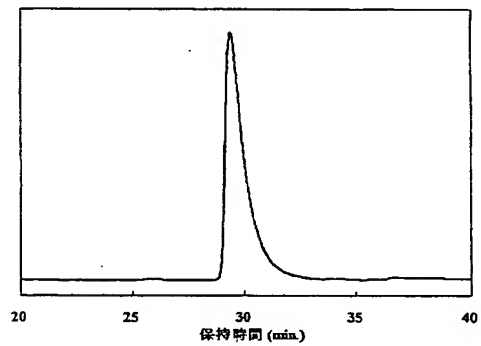
【図 12】



【図 13】



【図 14】



---

フロントページの続き

Fターム(参考) 4G066 AA22B AA22C AB01B AB01D AB02B AB02D AB03B AB03D AB05B AB05D  
AB09B AB09D AB18B AB18D AB21B AB21D AD10B AD10D AD11B AD11D  
AD13B AD13D BA22 BA33 BA38 CA56 EA01 FA03 FA11



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**